

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПОРОЗОИТАМИ *EIMERIA TENELLA*
(SPOROZOA, COCCIDIIDA)
ЭКЗОГЕННОГО ^{14}C -ГЛИЦИНА ДЛЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ

Ю. М. Крылов, Е. С. Сванбаев

Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт
птицеводства МСХ СССР, Ленинград

Установлено, что спорозоиты кокцидий *Eimeria tenella* ассимилируют ^{14}C -глицин из внеклеточной среды.

Спорозоиты кокцидий представляют собой стадию, заражающую хозяина. При этом принимается, что энергетическое обеспечение процессов эксцистирования, миграции в просвет кишечника и проникновение в клетку хозяина осуществляется у спорозоитов только за счет питательных веществ, накопленных в макрогамете (Хейсин, 1967; Hammond, 1973; Wang, 1978; Бейер и др., 1978). Однако эта общепризнанная точка зрения, по-видимому, не совсем верна. Так, Райли (Rayly, 1973) показал, что спорозоиты активно потребляют глюкозу и фруктозу из окружающей среды и этот процесс сопряжен с транспортом электронов по дыхательной цепи, а Софилд и Строут (Sofield, Strout, 1974), изучая процесс проникновения спорозоитов в культуру клеток, показали существование зависимости этого процесса от содержания некоторых аминокислот в культуральной среде. Естественно было сделать предположение о способности спорозоитов ассимилировать аминокислоты из внешней среды. Для проверки гипотезы мы поставили ряд экспериментов.

Материал и методы. В опытах использованы спорозоиты *Eimeria tenella* штамм Л-1-23. Спорозоитов получали в условиях, исключающих присутствие сопутствующей микрофлоры, модифицированным методом Райли и Доран (Rayly, 1973; Doran, 1973). Для выяснения способности спорозоитов инкорпорировать аминокислоты инкубацию спорозоитов проводили с 10, 20 и 30 мкКи ^{14}C -глицина, удельная активность 52.5 мКи/мМ, в растворе Хенкса в течение 60 мин при 41°. После

инкубации спорозоитов отмывали от метки и определяли радиоактивность инкорпорированной аминокислоты. При выяснении способности спорозоитов синтезировать белки, используя аминокислоты из внешней среды, применялась среда 199, в которой спорозоитов инкубировали в течение 60, 120 и 180 мин с 20 мкКи ^{14}C -глицина при 41° С, после чего тщательно отмывали от метки и выделяли тотальные белки (ТХУ нерастворимые белки) с применением 10%-ной трихлоруксусной кислоты и последующей отмычкой насыщенным спиртовым раствором ацетата натрия. Радиоактивность проб и отмывок определяли в сцинтилляторе Брея на сцинтилляционном счетчике «Марк-3» (США), рассчитывали количество мкМ глицина/ 10^5 спорозоитов в случае изучения инкорпорирования и мкМ глицина/белок 10^5 спорозоитов при исследовании способности синтезировать белки, используя экзогенные аминокислоты.

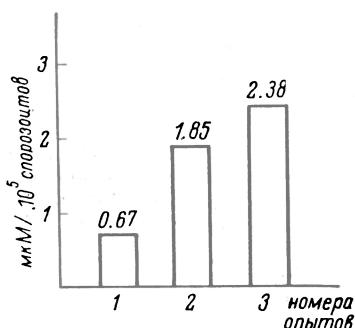


Рис. 1. Инкорпорирование ^{14}C -глицина спорозоитами *E. tenella* в зависимости от концентрации во внешней среде.

1 — 10 мкКи ^{14}C -глицина, 2 — 20 мкКи ^{14}C -глицина, 3 — 30 мкКи ^{14}C -глицина.

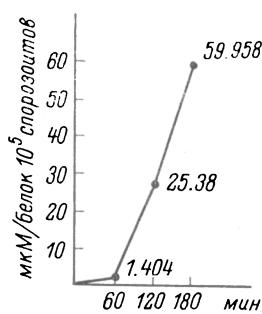


Рис. 2. Включение ^{14}C -глицина в ТХУ нерастворимую фракцию белков спорозоитов *E. tenella* в течение 180 мин.

В экспериментах использованы стерильные растворы; эффективность счета проб 92—93%; отмывки проводили до величины фона сцинтиллятора. Жизнеспособность спорозоитов контролировали микроскопически на протяжении всего времени инкубации. В работе приведены средние величины 3 параллельных опытов.

Результаты исследований. При исследовании способности спорозоитов *E. tenella* инкорпорировать аминокислоты из внешней внеклеточной среды (рис. 1) нами были получены следующие данные: в пробах с 10, 20 и 30 мкКи/2.5 мл в 10^5 спорозоитов включалось соответственно 0.67, 1.85 и 2.38 мкМ ^{14}C -глицина.

При исследовании способности спорозоитов синтезировать белки, используя экзогенные аминокислоты (рис. 2), были получены следующие результаты: через 60 мин в тотальные белки 10^5 спорозоитов включалось 1.404 мкМ ^{14}C -глицина, через 120 мин — 25.38 мкМ, а через 180 мин — 59.958 мкМ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что спорозоиты кокцидий на стадии внеклеточного существования инкорпорируют ^{14}C -глицин и включают его в свои белки. Интенсивность этого процесса зависит от концентрации глицина во внешней среде. С увеличением концентрации ^{14}C -глицина во внешней среде от 10 до 30 мкКи/2.5 мл среды инкорпорирующая способность возрастает.

Увеличение метки в тотальном белке при различных сроках инкубации показывает, что спорозоиты кокцидий синтезируют белки до проникновения в клетку хозяина.

Таким образом, существующая точка зрения о том, что питание у кокцидий начинается только на стадии трофозоита, должна быть отвергнута. Полученные данные показывают, что ассимиляция питатель-

ных веществ осуществляется кокцидиями уже на стадии спорозоитов в период их существования в просвете пищеварительного тракта, в среде, богатой различными питательными веществами.¹

Л и т е р а т у р а

Б е й е р Т. В., Ш и б а л о в а Т. А., К о с т е н к о Л. А. 1978. Цитология кокцидий. Л.: 1—185.

Х е й с и н Е. М. 1967. Жизненные циклы кокцидий домашних животных. Л.: 1—194.

D o g a n D. J. 1973. Existing sporozoites. — In: The Coccidia. Edit. by Ham-mond D. A. and Long P. L. University Park Press. Baltimore Butterworths. Lon-don : 432—434.

H a m m o n d D. M. 1973. Life cycles and development of coccidia. — In: The Coccidia. Edit. by Hammond D. A. and Long P. L. University Park Press. Baltimore Butterworths. London : 45—80.

R a y l y J. F. 1973. Cytochemistry, Physiology, and Biochemistry. — Там же : 145—182.

R a y l y J. F. 1973. Oocyst isolation techniques. — Там же: 432—434.

S o f i e l d W. L., S t r o u t R. G. 1974. Amino acids essential for in vitro culti-vation of *Eimeria tenella*. — J. Protozool. 21, (3). Suppl.: 434.

W a n g C. C. 1978. Biochemical and nutritional aspects of coccidia. — In: Avian Coc-cidiosis. Edit. by Long P. L., Borman K. N. and Freeman B. M. British Poultry Science Ltd. Edinburgh : 135—184.

THE USE OF EXOGENOUS ^{14}C -GLYCINE
BY SPOROZOITES OF *EIMERIA TENELLA* (SPOROZOA,
COCCIDIIDA) FOR SYNTHESIS OF PROTEINS

Yu. M. Krylov, E. S. Svanbaev

S U M M A R Y

By means of ^{14}C -glycine the ability of sporozoites of *Eimeria tenella* to synthesize proteins using amino acids from external extracellular medium was shown.
